



Compte rendu de mission au Cameroun

P.-Y. Teycheney

25-29 octobre 2010

1. Présentation générale de la mission

Cette mission avait pour objectifs :

- De présenter aux chercheurs du CARBAP les maladies virales affectant les bananiers et plantains, les outils de diagnostic disponibles et les recherches relatives à ces sujets conduites au CIRAD Guadeloupe
- De présenter les stratégies mises en œuvre au CIRAD Guadeloupe pour la création de géniteurs *M. balbisiana* améliorés ne présentant pas de risque d'activation des eBSV infectieux
- De réaliser un diagnostic des installations du CARBAP en biologie moléculaire et des stratégies de multiplication végétative mises en œuvre afin de conseiller le CARBAP sur la mise en place d'activités d'indexation virologique et d'un schéma de production de matériel végétal offrant des garanties sanitaires vis-à-vis des virus

Elle a été impeccablement organisée sur place par Sébastien Ricci, généticien améliorateur de l'UPR75 détaché au CARBAP.

2. Présentations

Trois présentations distinctes ont été faites aux chercheurs du CARBAP

- une présentation sur les risques virologiques majeurs actuels et émergents pour les bananiers et plantains : après l'introduction de notions de base de virologie, cette présentation a permis d'aborder chacun des virus connus infectant bananiers et plantains (BBTV et ABTV, BSV, CMV, BBrMV, BanMMV, BVX et AbaMV) du point de vue de la symptomatologie, de l'impact sur la production et des stratégies de contrôle. Les cas du BBTV et du BSV ont été particulièrement détaillés, compte tenu de leur importance dans la zone.
- une présentation portant sur les eBSV et sur les travaux engagés au CIRAD Guadeloupe : création de ressources *balbisiana* améliorées ne présentant pas de risques d'activation des eBSV infectieux, comparaison des potentiels d'activation des eBSV infectieux dans des accessions comportant une ou deux copies du génome *M. balbisiana*
- une présentation portant sur les techniques de diagnostic des espèces virales infectant bananiers et plantains, et sur les itinéraires techniques de production de vitroplants garantis indemnes de virus.

3. Visite de parcelles expérimentales

a. Parcelle d'évaluation d'hybrides de plantain en conditions de culture intensive (Essai ECOPLANTAIN)

Cette parcelle, suivie par Sylvain Delpigny (UR26), fait l'objet d'une fertilisation poussée destinée à tester les limites supérieures de production de certaines des variétés hybrides créées au CARBAP. Elle est organisée en 5 blocs randomisés de 9 plantes chacune pour chaque variété testée :

- variétés hybrides naturelles (AAB): Bâtard, French clair, Essong, Big Ebanga et Mbouroukou n°3
- variétés hybrides interspécifiques créées à la FHIA (FHIA21, AAAB) ou au CARBAP* (CRBP39, AAAB ; D248, AAA ou AAB ; D535, AAAB).

La visite a été effectuée en fin de 2^e cycle. Sur cette parcelle, de nombreuses plantes expriment des symptômes foliaires d'une infection par le BSV (voir figure 1). La variété présentant la plus grande proportion de plantes symptomatiques est D248, suivie de D535, CRBP39 et FHIA21.

* : *pedigrees* :

- D535 : Kar Ngou x M53
- D248 : CRBP753 x CRBP192
- M53 est issu d'un croisement entre parents eux-même issus des croisements malaccensis x banksii d'une part et Paka x banksii d'autre part
- CRBP 753 : Red Yade x Calcutta 4
- CRBP192 : French sombre x Calcutta 4

b. Parcelle d'évaluation d'hybrides de plantain - (Thèse projet PIC « Ecophysiologie »)

Cette parcelle, suivie par Léopold Sodom dans le cadre de sa thèse, fait l'objet d'une fertilisation à l'aide de doses égales à environ 80% de celles utilisées pour la culture intensive (voir a.). Elle comporte malheureusement des variétés différentes de celles utilisées dans l'essai précédent (à l'exception de CRBP39), ce qui rend les comparaisons très difficiles. La visite a été effectuée en début de 2^e cycle. La présence de symptômes foliaires est très rare, sans commune mesure avec celle observée sur la parcelle cultivée en conditions de culture intensive (voir 2a.). Notamment CRBP39 n'exprime pas de symptôme foliaire visible.

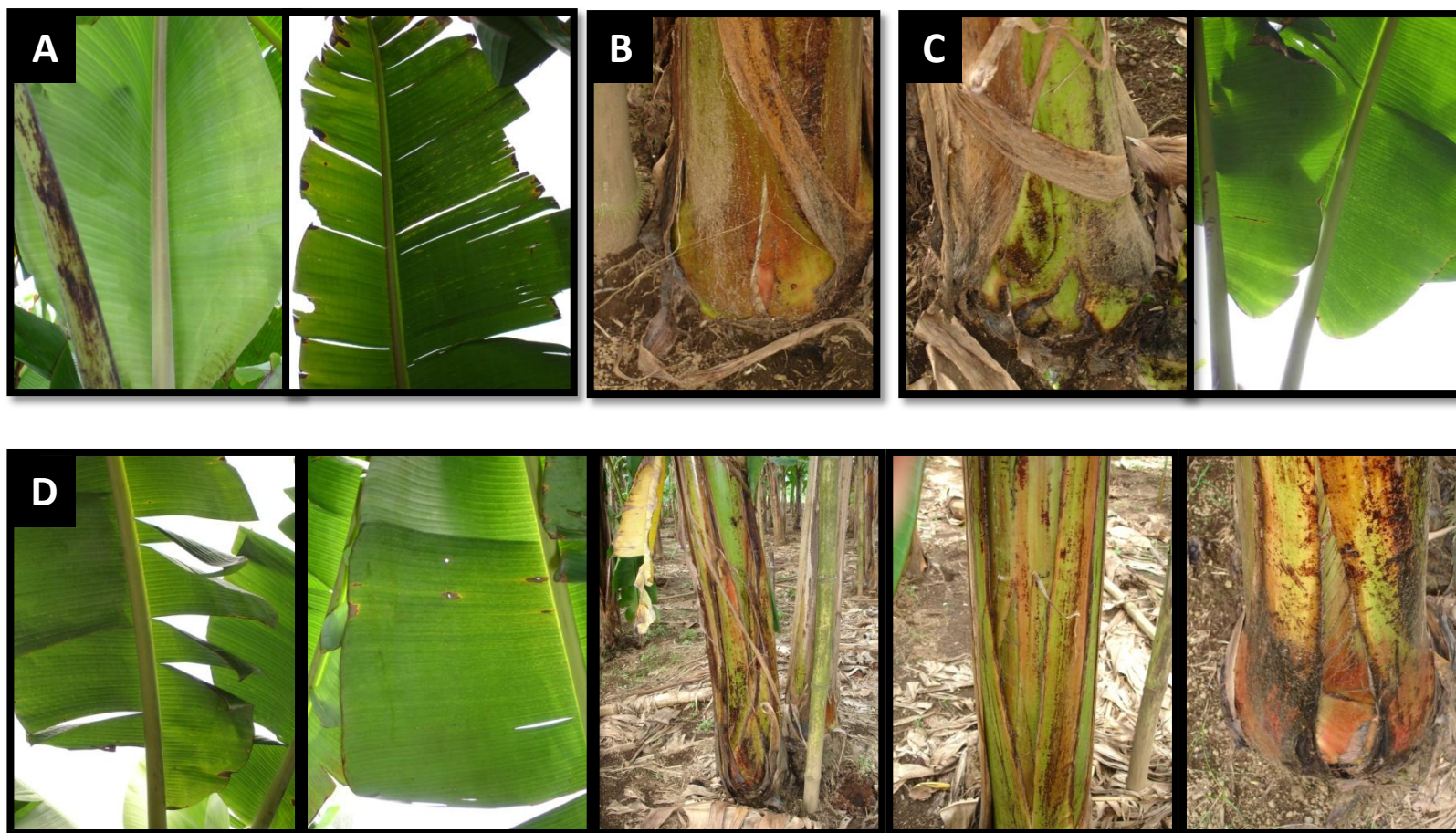


Figure 1 : Symptômes d'infection par les espèces BSV observés sur les variétés hybrides et cultivars évalués en conditions de culture intensive

A : symptômes foliaires sur hybride FHIA21 (AAAB)

B : symptômes sur pseudotrunc sur cv Big Ebanga (AAB)

C : Symptômes foliaires et sur pseudotrunc sur hybride D248 (AAB ou AAA)

D : Symptômes foliaires et sur pseudotrunc sur hybride D535 (AAAB)

c. Parcelle d'évaluation d'hybrides de plantain en l'absence de fertilisation

Cette parcelle, suivie par Sébastien Ricci, comporte les variétés hybrides suivantes : D248, D535 et CRBP39. La visite a été effectuée en tout début de 3^e cycle. Les plants sont encore petits, ce qui rend difficile la comparaison avec les plantes des deux autres parcelles. Cependant, aucun symptôme foliaire de BSV n'a pu être observé.

d. Conclusions

Il serait intéressant d'ajouter aux critères d'évaluation de ces parcelles la présence ou l'absence de symptômes BSV (sur feuille et pseudotrunc) afin d'établir dans chacun des essais (i) la proportion de plantes symptomatiques au cours du temps et (ii) l'impact de l'infection sur la production et le rendement des variétés testées. Idéalement, une indexation des plantes de la parcelle devrait être effectuée, au moins au moment de la coupe des régimes. Cela permettrait entre autres de comparer l'impact des itinéraires techniques sur l'expression au champ d'eBSV infectieux.

NB : aucun symptôme de BBTv n'a été observé.

4. Visite des laboratoires et des installations du CARBAP

a. Laboratoire de biologie moléculaire (responsable : S. Ricci)

Aucune activité en biologie moléculaire n'est envisageable tant que la sécurisation de l'approvisionnement en électricité ne sera pas assurée, en particulier du fait de la nécessité impérieuse de stocker au froid certains réactifs. Pourtant, ce laboratoire a fait, il y a plusieurs années, l'objet d'achat d'équipements dont certains sont encore en état de fonctionnement:

- Thermocycleur pour tubes de 0.5 µL (bloc 60 tubes)
- Centrifugeuse de paillasse non réfrigérée Sigma 3K30C avec rotors 48 microtubes et 6 tubes 30 mL
- Conteneur d'azote liquide non pressurisé
- Matériel pour électrophorèse en gel d'agarose (1 appareil horizontal pour grand gel et 1 pour petit gel) et de polyacrylamide (1 appareil pour gel de petite taille et 1 pour gel de taille moyenne)
- Système Polaroid de prise de vue de gels, avec lampe UV
- 2 étuves
- 1 machine à glace
- 2 bain marie
- 1 congélateur à -80°C, 1 congélateur à -20°C, 1 réfrigérateur
- Petit matériel de laboratoire (vortex, 3 jeux de micropipettes)

Cependant, le niveau d'équipement actuel ne permet pas la conduite d'activités de biologie moléculaire et/ou d'indexation virologique pourtant nécessaire à la certification du matériel végétal produit au CARBAP quelle que soit la méthode utilisée (CIV, PIF). Cette nécessité est d'autant plus forte qu'un programme important de production et de diffusion de matériel végétal a été mis en place et que son ampleur va croissant. En particulier, la diffusion de deux variétés hybrides créées au CARBAP (CRBP969, de génotype AAAB ; F568, de génotype incertain AAA ou AAB) dans le cadre d'un programme de sélection participative étendu à 6 pays à raison de 2 sites par pays, de même que celle plus modeste des variétés CRBP838 (AAAB), D535 (AAB) et F709 (AAA ou AAB) pour des évaluations multilocales ont fait l'objet de multiplication. Or, le matériel produit au CARBAP ne fait actuellement l'objet d'aucun contrôle phytosanitaire, malgré le risque élevé de d'introduction et/ou de diffusion de maladies, notamment virales, par la distribution de matériel végétal non certifié. En particulier, le risque d'introduction du BBTv dans les zones de production de banane dessert destinées à l'export et dans les zones de production de plantain est bien réel et doit impérativement être pris en compte. La mise en place d'un laboratoire de biologie moléculaire et d'indexation virologique est également nécessaire à l'application de stratégies de création de variétés hybrides de plantain sans risque d'activation d'eBSV infectieux, si le schéma d'amélioration des géniteurs *M. balbisiana* mis en œuvre au CIRAD Guadeloupe est adopté par le CARBAP, ce qui est souhaitable.

b. Laboratoire de culture in vitro (responsables Eric Youmbi, et S. Ricci depuis)

Ce laboratoire a pour principales fonctions :

- la multiplication de matériel végétal pour les besoins du CARBAP et de partenaires régionaux dans le cadre de projets de recherche : le matériel de départ provient soit de l'ITC soit de la collection du CARBAP. Dans le deuxième cas, le matériel de départ n'est pas indexé avant multiplication.
- le sauvetage d'embryons dans le cadre des activités de création variétale du CARBAP
- la conservation des ressources génétiques du CARBAP

- la formation de techniciens de pays tiers à l'acclimatation des vitroplants

L'équipe mène des travaux de recherche sur les techniques de culture *in vitro*, en particulier l'utilisation des bourgeons caulinaires comme matériel de départ.

Les conditions actuelles de fonctionnement du laboratoire pénalisent son activité, essentiellement du fait du mauvais état d'équipements clés : appareil à eau distillée, autoclave, climatiseurs et groupe électrogène en panne, hottes à flux laminaire non entretenues, vitrothèque non fonctionnelle. Ces conditions très dégradées sont incompatibles avec l'accroissement de la capacité de production nécessaire à la conduite de certains projets. Compte tenu du rôle stratégique de ce laboratoire dans les activités de création variétale (sauvetage d'embryon), de conservation (mise de la collection *in vitro*) et de diffusion de matériel végétal (multiplication de matériel pour les essais), une remise en état des équipements est nécessaire.

c. Laboratoire d'entomologie et de nématologie (responsable : Pierre-Michel Loubana)

Ce laboratoire affiche un nombre d'activités très élevé au regard de ses effectifs. Il est, comme pour la plupart des équipes du CARBAP, très difficile de se faire une idée précise des activités réelles de l'équipe. Le niveau d'équipement est particulièrement faible.

L'équipe d'entomologie travaille essentiellement sur le charançon *Cosmopolites sordidus*, notamment son contrôle biologique, et sur les cochenilles. Le chercheur responsable était absent lors de ma visite.

L'équipe de nématologie est principalement impliquée dans des activités d'identification et de monitoring. Elle affiche une collaboration avec l'équipe de nématologie du PRAM sur des activités d'inventaire faunistique, de recherche de plantes de service et d'étude des relations sol/plante/nématode. Cette équipe est impliquée dans l'identification de résistances aux nématodes dans la collection du CARBAP et de diagnostic nématologique en appui au programme de production de plants par multiplication horticole (PIF). Sur la base de ce diagnostic, les méthodes de parage des rejets sont adaptées afin de limiter le risque de propagation de matériel contaminé. Aucun contrôle de l'état sanitaire du matériel produit vis-à-vis des nématodes n'est en revanche affiché.

d. Unité PIF (responsable : Moïse Kwa)

Cette unité est responsable de la production de matériel végétal par la technique de multiplication horticole (PIF : plants issus de fragments de tiges) qu'elle a optimisée. Un nombre important de pépinières privées utilise cette technique pour produire et diffuser du matériel végétal, avec l'appui des services de l'état qui y voient un moyen de renforcer le tissu micro entrepreneurial. Malheureusement, en l'absence de schéma de certification du matériel produit, le risque de diffusion de maladies, notamment virales, par le matériel issu de PIF est très important. Actuellement, les seules analyses réalisées sur le matériel utilisé à des fins de multiplication au CARBAP concernent le diagnostic vis-à-vis des nématodes et des charançons, réalisé sur place, et il ne semble pas systématique.

La mise en place au CARBAP d'un schéma de certification vis-à-vis des virus se heurte à deux obstacles :

- Absence de laboratoire de diagnostic
- Itinéraire technique de production :
 - le nombre de rejets utilisés est très important, et l'indexation du matériel de départ nécessiterait donc un nombre très élevé d'analyses, peu envisageable
 - les conditions de production de matériel ne sont pas optimales au plan de la sécurité sanitaire, les germoirs et les serres de sevrage n'étant pas insect proof, le substrat pas stérile : le risque de contamination après multiplication est donc également important

La situation est d'autant plus préoccupante que des parcelles dites semencières sont actuellement créées dans tous le pays à l'aide du matériel multiplié au CARBAP, afin de répondre à la demande nationale de plants de banane à cuire (environ 15 millions de plants).

Concernant spécifiquement le BSV, M. Kwa n'a pas observé de plants symptomatiques parmi les variétés naturelles de plantain (AAB) multipliées par PIF depuis une quinzaine d'année. Cette observation mériterait d'être étayée par des données expérimentales.

e. Laboratoire de phytopathologie (responsable : Alassa Mouliom Pefoura)

Cette unité travaille principalement sur la maladie des raies noires et dans une moindre mesure sur la pourriture de couronne.

Le niveau d'équipement, quoique faible, permet à l'équipe de mener des activités de recherche, grâce à des collaborations, en particulier avec les équipes du CIRAD.

6. Conclusions et recommandations

6.1. Fonctionnement du CARBAP

Concernant le fonctionnement du CARBAP, on peut regretter le manque de dynamisme global, notamment une carence en matière d'animation scientifique. Malgré l'ambition affichée de faire du CARBAP un centre d'excellence, le niveau général des recherches et de la réflexion scientifique supposée les accompagner est extrêmement faible. Ce manque d'ambition, l'absence de politique scientifique et le risque de dérive politique résultant de la volonté de mainmise par le gouvernement camerounais, en contradiction avec la vocation régionale du centre, sont des obstacles sérieux à une amélioration de la situation, qui s'est plutôt dégradée depuis ma précédente visite (juin 2005). Ces facteurs doivent être soigneusement pris en compte dans la stratégie du CIRAD, notamment en ce qui concerne l'expatriation d'agents CIRAD au CARBAP.

6.2. Recommandations pour la mise en place d'une capacité locale d'indexation virologique

Ma mission avait pour objectif initial d'apporter un appui en virologie à S. Ricci. Cependant, les attentes du CARBAP m'ont amené à aborder le problème de la certification sanitaire du matériel végétal vis-à-vis des maladies virales.

La situation actuelle de production de matériel n'offrant aucune garantie phytosanitaire est très préoccupante, notamment en raison de l'échelle régionale des diffusions du matériel produit au CARBAP. Compte tenu de l'ampleur des programmes de diffusion, la mise en place d'une capacité locale de diagnostic virologique est pertinente. Elle nécessite :

- l'acquisition des équipements suivants :
 - lecteur de plaque ELISA
 - thermocycleur avec bloc de 96 puits
 - 1 Poste informatique pour pilotage des appareils (lecteur de plaques ELISA) et stockage des données
 - onduleurs pour l'ensemble des équipements sensibles et/ou coûteux (thermocycleur, lecteur de plaque ELISA, ordinateurs) ou onduleur général pour l'ensemble du laboratoire
 - appareil photo numérique pour prise de vue des gels d'électrophorèse (le système Polaroid existant est obsolète et très coûteux en fonctionnement)
- la remise en état des équipements suivants
 - appareil à eau distillée, avec mise en place d'une cartouche de pré-filtrage
 - climatiseurs du laboratoire
- la présence de personnel permanent formé aux techniques d'indexation virologique (test ELISA, IC-(RT)-PCR
- les moyens financiers permettant la conduite des activités d'indexation, les coûts de fonctionnement dépassant les dotations actuelles.

L'achat de certains équipements pourrait être pris en charge dans le cadre de projets soumis. Le CIRAD pourrait pour sa part participer à la formation et/ou remise à niveau de personnel aux techniques d'indexation virologique, à la condition expresse que le CARBAP démontre sa volonté de mettre en place une activité pérenne de diagnostic et s'en donne les moyens. En effet, plusieurs missions d'appui au diagnostic virologique ont déjà été effectuées au CARBAP par des chercheurs du CIRAD, sans que les moyens nécessaires à la mise en place effective d'une capacité en diagnostic n'aient été dégagés.

6.3. Certification du matériel végétal

La production à grande échelle de matériel végétal a déjà débuté sans que les conditions de sa certification sanitaire ne soient réunies. La méthode choisie pour produire ce matériel (PIF) rend la certification sanitaire difficile, voire impossible, alors le recours à la micropropagation aurait permis un contrôle relativement aisé. Dans l'immédiat, un appui (et non une assistance) doit être apporté au CARBAP pour limiter le risque de diffusion de maladies virales et l'aider à mettre en place des stratégies de contrôle sanitaire applicables au schéma de production choisi. Il est de la responsabilité du CARBAP d'obtenir les moyens matériels nécessaires.

Le projet PPTE prévoit la production de plusieurs millions de plants issus de PIF. Le choix (principalement politique) de cette méthode de multiplication implique des étapes en plein champ rendant impossible une garantie absolue de l'état sanitaire du matériel produit. La stratégie la plus raisonnable pour permettre une certaine qualité sanitaire (voir figure 2B) consiste à :

- indexer le matériel initial servant à la première étape de multiplication *in vitro*
- indexer un échantillon des plantes issues de CIV après leur passage au champ et avant leur utilisation en PIF
- indexer un échantillonnage des plantes issues la première étape de PIF leur deuxième passage en PIF

Un appui est nécessaire pour définir précisément les conditions d'échantillonnage et la stratégie la plus adaptée pour garantir au mieux l'état sanitaire du matériel qui sera produit. En particulier, l'expérience de Vitropic en matière d'indexation des descendance, construite lors de la crise sanitaire BBrMV aux Antilles, pourrait s'avérer particulièrement utile.

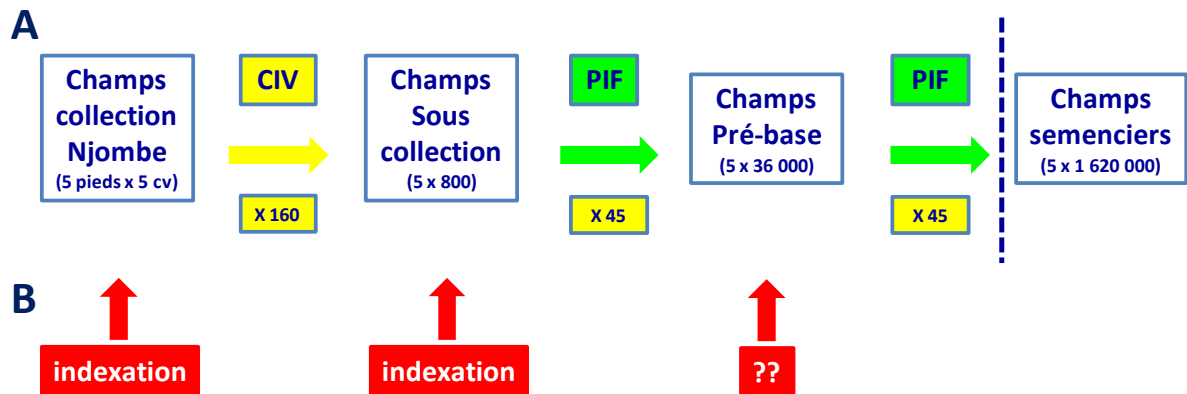


Figure 2 : Stratégie de production de plants dans le cadre du projet PPTE

A : Production de plants

B : Contrôle de l'état sanitaire vis-à-vis des virus du matériel produit